

UJI EFEKTIVITAS ASAP CAIR CANGKANG BUAH *Hevea braziliensis* TERHADAP AKTIVITAS BAKTERI *Escherichia coli*

Dinda Oktarina*¹, Sumpono², Rina Elvia³

^{1,2,3}Program Studi Pendidikan Kimia, Jurusan PMIPA FKIP, Universitas Bengkulu
email : dindarzll28@gmail.com

Abstract

This research purpose to determine the effectiveness of the liquid smoke of the *Hevea braziliensis* fruit shell against the activity of *Escherichia coli* bacteria. The preparation and purification of liquid smoke is carried out by 4 stages: pyrolysis, sedimentation, stage 1 and stage 2 distillation. This research was started with total acidity test, phenol level, pH and density with result of measurement 4,725% total acid content, 0,84% phenol content, 2,548 pH and 1,004 in density. An antibacterial test using disc diffusion method by looking at the diameter of the clear zone. There are six concentrations of liquid smoke of *H.braziliensis* rubber shell used, negative control using aquades and positive control using *ciprofloxacin*. An effective concentration was found in inhibiting *E.coli* is 100% concentration with a clear zone diameter of 11.3 mm. The result of analysis using One Way ANOVA showed F count (4.42) > F table (3,23), then H₀ rejected, meaning there is a significant difference of influence of concentration to the diameter of clear zone produced.

Keywords : *H.braziliensis* fruit shells, Liquid Smoke, antibacterials, *Escherichia coli*

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas asap cair cangkang buah *Hevea braziliensis* terhadap aktivitas bakteri *Escherichia coli*. Pembuatan dan pemurnian asap cair dilakukan dengan 4 tahapan yaitu proses pirolisis, sedimentasi, destilasi tahap 1, dan destilasi tahap 2. Penelitian ini diawali dengan uji kadar asam total, kadar fenol, pH dan massa jenis dengan hasil pengukuran kadar asam total sebesar 4,725%, kadar fenol 0,84%, pH 2,548 dan massa jenis 1,004. Pengujian anti bakteri dari asap cair cangkang buah *H. braziliensis* menggunakan metode difusi cakram dengan mengukur besarnya diameter zona bening yang dilakukan dengan enam konsentrasi larutan asap cair dan kontrol negatif menggunakan aquades dan kontrol positif menggunakan *ciprofloxacin*. Dari enam perlakuan konsentrasi, diperoleh konsentrasi yang efektif dalam menghambat bakteri *E. coli* yaitu konsentrasi 100% dengan diameter zona bening sebesar 11,3 mm. Hasil uji hipotesis menggunakan One Way ANOVA memperlihatkan bahwa F hitung (4,42) > F tabel (3,23), maka H₀ ditolak, yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari pengaruh konsentrasi terhadap diameter zona bening yang dihasilkan.

Kata kunci : Cangkang buah *H.braziliensis*, Asap Cair, Antibakteri, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Hevea braziliensis atau karet alam merupakan salah satu komoditas utama sektor perkebunan. Tanaman ini merupakan tanaman berupa pohon besar yang banyak terdapat di Indonesia yang merupakan salah satu negara penghasil terbesar di dunia, dengan luas areal tanaman perkebunan sebesar 3606, 23 ha dan produksi 3153,2 ton [1]. Di Bengkulu sendiri, luas areal tanaman perkebunan karet pada tahun 2013 sebesar 94,95 ribu ha dengan produksi sebesar 91,10 ribu ton [2].

Selain hasil utama berupa lateks, tanaman karet juga akan menghasilkan limbah cangkang serta biji karet yang sangat banyak. Untuk itu penting adanya alternatif cara untuk menanggulangi besarnya limbah tersebut [3],

baik digunakan sebagai bahan bakar alternatif pengganti bahan bakar minyak (BBM) [4], karbon aktif [5] dan sebagainya. Limbah ini juga sangat potensial untuk diolah menjadi asap cair, karena adanya kandungan senyawa aromatik dan senyawa asam organik yang banyak [6]. Asap cair merupakan senyawa-senyawa yang menguap secara simultan dari reaktor panas melalui teknik pirolisis dan terkondensasi pada sistem pendingin [7]. Kandungan kimia asap cair kayu merupakan hasil dari pirolisis konstituen bahan baku seperti selulosa, hemiselulosa, dan lignin, mengandung tar yang tinggi dan berwarna keruh sehingga perlu diredestilasi secara berulang-ulang [8]. Komponen kimia utama asap cair adalah asam, derivat fenol, dan karbonil yang berperan sebagai pemberi rasa, pembentuk warna,

antibakteri, dan antioksidan [9]. Sifat antibakteri dan anti oksidan pada bahan alam umumnya selalu terkait dengan besarnya kandungan fenol [10,11], yang dapat merusak membran sitoplasma bakteri.

Bakteri *Escherichia coli* adalah kelompok bakteri berbentuk batang anaerob fakultatif gram negatif [12], penyebab utama infeksi usus khususnya diare yang secara normal terdapat di dalam usus dan berperan dalam proses pembusukan sisa-sisa makanan. Namun bila keberadaannya telah di atas jumlah normal dapat membahayakan kesehatan [13].

Pengobatan untuk penyakit infeksi usus ialah dengan pemberian antibiotic, namun penggunaan yang terus-menerus dapat menyebabkan terjadinya resistensi bakteri [14]. Oleh karena itu pencarian antimikroba baru yang lebih efektif dan aman menjadi perlu untuk terus dilakukan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas asap cair cangkang buah *H. braziliensis* terhadap aktivitas bakteri *E. coli*. Pada penelitian ini alat yang digunakan meliputi : seperangkat alat produksi asap cair rancangan S2 IPA FKIP dan alat destilasi lengkap, buret, termometer, statif dan klem, neraca analitik, berbagai alat gelas, piknometer, hot plate, cawan petri, vortex shaker, spektrofotometer (Thermo Scientific Evolution 201), pH meter, autoklaf, kawat ose, pinset, laminary air flow, incubator, colony counter, lampu spiritus, magnetic stirrer, pipet mikro dan spreader.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi : cangkang buah karet, biakan murni bakteri *E.coli* (laboratorium Mikrobiologi MIPA), kertas saring Whatman No.1 dan No 41, aluminium foil, oli (dexos), serbuk NaOH 0,1 N (Merck), indikator fenoltalein, alkohol 96%, serbuk FeCl₃ (Merck), aquades, reagen folin-ciocalteu (Merck), serbuk Na₂CO₃ (Merck), Padatan kristal fenol (Merck), Nutrien Broth (Merck), Nutrien Agar (Merck), dan tablet ciprofloxacin.

Untuk persiapan sampel, sebanyak 2 kg cangkang buah karet yang sudat tua dicuci sampai bersih dari kotoran yang menempel. kemudian dikeringkan dengan cara dijemur tanpa cahaya matahari langsung selama 5 hari sehingga kering dan ditumbuk menjadi pecahan-pecahan yang lebih kecil. Untuk mendapatkan asap cair dihasilkan dengan proses pirolisis pada alat produksi asap cair selama 12 jam. Asap yang keluar dari reaktor didinginkan melalui unit kondensor yang dialiri air dingin, dan hasil kondensasi di tampung di dalam botol kaca. Kemudian asap cair hasil pirolisis di diamkan selama 7 hari untuk memisahkan fraksi padat (tar) yang

diamati pengendapannya setiap hari. Asap cair yang telah diendapkan kemudian disaring dengan menggunakan kertas Whatman no 41. Selanjutnya dilakukan proses destilasi 2 tahap dengan suhu 200 °C yang bertujuan untuk meminimalisir kandungan tar dan hidrokarbon polisiklis aromatis (PAH) dalam asap cair. Pengukuran Bobot Jenis Asap Cair, dilakukan menggunakan piknometer yang telah dibersihkan dengan alkohol 96 %, selanjutnya dikeringkan dan ditimbang secara teliti dengan neraca analitis. Untuk uji kualitatif fenol asap cair, dilakukan dengan menimbang 0,5 g asap cair, dilarutkan ke dalam 5 mL aquades dan dipanaskan hingga mendidih. Kemudian ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Uji akan dinyatakan positif jika terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat. Untuk penentuan kadar asam total, diambil 10 mL asap cair, ditambahkan aquadest sampai volumenya 100 mL dan dihomogenkan. Kemudian ditambahkan 3 tetes indikator phenolptalin dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai sampel berubah warna menjadi merah keunguan dan stabil.

Untuk penentuan kadar fenol, dimulai dengan penentuan panjang gelombang optimum. Timbang 0,01 g fenol kristal dan menambahkan aquadest sampai volumenya 100 mL sehingga akan didapatkan larutan fenol konsentrasi 100 ppm. Pipet 0,5 mL larutan fenol konsentrasi 100 ppm, tambahkan 0,5 mL reagen folin-ciocalteu dan diamkan selama 3 menit. Kemudian tambahkan 1 mL Na₂CO₃ 5% dan di vortex. Selanjutnya diukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 600-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Untuk mendapatkan kurva standar fenol dipipet sebanyak 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL dan 0,5 mL larutan fenol 100 ppm, kedalam masing-masing tabung reaksi. Untuk larutan yang belum mencapai volume 0,5 mL perlu ditambahkan aquades masing-masing secara berurutan 0,4, 0,3, 0,2, 0,1 dan 0 mL, dilanjutkan kemudian dengan penambahan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu ke dalam setiap tabung dan selanjutnya diamkan selama 3 menit. Ditambahkan lagi ke dalam masing masing tabung sebanyak 1 mL larutan Na₂CO₃ 5 % kemudian dikocok dalam vortex shaker. Kemudian larutan pada setiap tabung diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum yang telah diperoleh dan dibuat kurva kalibrasinya menggunakan hubungan antara konsentrasi fenol dengan absorbansi dari setiap konsentrasi.

Penentuan kadar fenol asap cair dilakukan dengan memipet sebanyak 50 µL asap cair, diencerkan menggunakan aquades hingga volumenya 20 mL, kemudian dipipet sebanyak 0,5 mL kedalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu

didiamkan selama 3 menit, kemudian dikocok dalam vortex shaker. Setelah dikocok, ditambahkan 1 mL larutan Na_2CO_3 5 % , dikocok dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum yang telah diperoleh. Untuk uji pH, sebanyak 10 mL sampel dengan pH meter dengan terlebih dahulu dilakukan standarisasi buffer pada pH 4,0 dan 7,0. Pengukuran dilakukan setelah jarum penunjuk konstan.

Untuk uji aktivitas antibakteri asap cair, dimulai dengan melakukan sterilisasi alat gelas, dan kertas cakram dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat seperti kawat ose disterilkan dengan pembakaran langsung di atas lampu spiritus. Gelas kimia disterilkan secara kimia dengan menggunakan etanol 96% dan dipanaskan di atas lampu spiritus. Pada pembuatan media, ditimbang sebanyak 10 g serbuk NA dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 1000 mL kemudian dilarutkan dalam 500 mL akuades. Sedangkan untuk media cair, sebanyak 6 gram serbuk NB dan dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer 1000 mL kemudian dilarutkan dalam 500 mL akuades. Kemudian dilakukan pemanasan menggunakan hot plate hingga semua bahan larut dan homogen, setelah itu larutan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Untuk pembuatan larutan sampel dan kontrol positif dibuat dengan variasi konsentrasi asap cair sebesar 5%, 10%, 25%, 50%, 75% dan 100% sedangkan kontrol positif dibuat dengan konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ose bakteri uji *E. coli*. Kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi 250 mL nutrient broth steril. Suspensi tersebut kemudian dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 230 rpm selama 24 jam. Setelah itu suspensi bakteri terlebih dahulu perlu diencerkan untuk mengetahui jumlah koloni bakteri yang dapat digunakan untuk uji antibakteri dan pengujian aktivitas antibakteri *E. coli* dilakukan dengan metode difusi cakram. Data yang diperoleh selanjutnya diuji menggunakan One Way Anava.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari s.d Mei 2017 yang dilaksanakan di laboratorium SBIH Ruyani, FKIP Kimia UNIB, dan FKIK UNIB. Sampel yang digunakan adalah cangkang buah *H. braziliensis* yang diambil dari perkebunan karet rakyat di daerah Sukaraja Provinsi Bengkulu. Untuk pembuatan asap cair dari cangkang buah *H. braziliensis* digunakan proses pirolisis, sedimentasi dan destilasi 2 tahap yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil asap cair cangkang buah karet pada berbagai proses.

Proses	Volume mL	Rendemen %	Warna
Pirolisis	815	42,01	Coklat Kehitaman
Sedimentasi	800	41	Coklat Terang
Destilasi tahap 1	736	37,5	Kuning Keruh
Destilasi tahap 2	716	36,2	Kuning Jernih

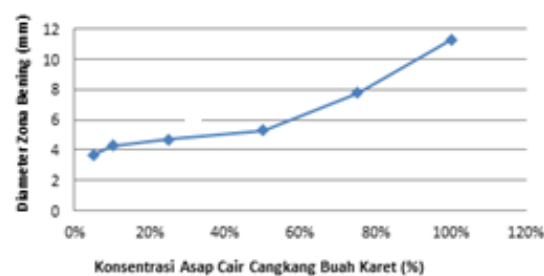
Dari Tabel 1 di atas dapat terlihat bahwa terjadi penurunan volume, rendemen dan perubahan warna asap cair menjadi lebih jernih, yang diduga karena dari terjadinya penurunan kandungan tar dan PAH dari asap cair. Hasil analisa sifat fisik dan kimia dari asap cair destilasi tahap 2 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisa sifat fisik dan kimia asa cair

Parameter	Hasil	Standart Jepang
Massa Jenis	1,004	1,001-1,005
Fenol	+	-
Asam Total	4,725 %	-
Kadar Fenol	0,84 %	-
pH	2,548	1,5-3,7

Dari Tabel 2 tersebut dapat dilihat bahwa asap cair yang diperoleh sudah sesuai digunakan sebagai sampel untuk uji antibakteri karena sudah mengandung fenol dan asam asetat yang merupakan komponen terbesar asam total dan juga jika dilihat dari bobot jenis dan pH sudah memenuhi standart .

Hasil uji antibakteri asap cair terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Hubungan Konsentrasi vs Diameter Zona Bening

Terjadi peningkatan diameter zona bening pada setiap peningkatan konsentrasi, yang menandakan semakin efektif asap cair dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* (Gambar 1). Adapun hasil diameter zona bening setiap konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil diameter zona bening setiap konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif

Konsentrasi	Diameter Zona Bening
5%	3,7 mm
10%	4,3 mm
25%	4,7 mm
50%	5,3 mm
75%	7,8 mm
100%	11,3 mm
K+	30,5 mm
K-	-

Berdasarkan Tabel 3 di atas, dengan kriteria diameter zona bening terhadap respon hambatan pertumbuhan bakteri yaitu lemah (< 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm) dan sangat kuat (> 20 mm) [15], menunjukkan pada konsentrasi larutan 5, 10 dan 25 % asap cair mempunyai respon hambatan pertumbuhan bakteri yang lemah, pada konsentrasi 50 dan 75 % mempunyai respon hambatan pertumbuhan sedang, dan pada konsentrasi 100 % asap cair mempunyai respon hambatan pertumbuhan kuat. Kontrol negatif menggunakan *ciprofloxacin* memiliki respon hambatan pertumbuhan bakterinya sangat kuat. Zona bening yang dihasilkan dari setiap perlakuan konsentrasi itu dikarenakan adanya interaksi senyawa fenol kadar dalam asap cair dengan protein membentuk kompleks protein fenol, diikuti masuknya fenol bebas ke dalam sel, menyebabkan pengendapan dan denaturasi protein, yang menyebabkan koagulasi protein sehingga membran sel mengalami lisis [16]. Selain itu asam asetat dalam asap cair juga mempunyai peranan penting sebagai anti bakteri, karena kemampuannya mendestabilisasi bermacam-macam fungsi dan struktur komponen sel [17]. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian asap cair sebelumnya sebagai anti bakteri [18, 19,].

Hasil analisis data pada One Way Anova, diperoleh F hitung sebesar 4,42. Sementara F tabel adalah 3,23, sehingga F hitung \geq F tabel, maka H_0 ditolak, artinya terdapat perbedaan yang signifikan dari pengaruh konsentrasi terhadap diameter zona bening yang dihasilkan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan bahwa asap cair dari cangkang buah *H.braziliensis* efektif menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* pada konsentrasi 100%. Hal ini juga ditandai dengan analisis sifat fisik dan kimia asap cair seperti pH yang dihasilkan dari asap cair cangkang buah *H.braziliensis* sebesar 2,548, kadar fenol sebesar 0,84% dan kadar asam asetat sebesar 4,725%

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, masih terdapat beberapa hal yang belum maksimal dilakukan pada saat pelaksanaan penelitian, di antaranya:

1. Perlu dilakukan identifikasi senyawa-senyawa yang terdapat pada asap cair cangkang buah *H.braziliensis* dengan analisis GC-MS.
2. Dalam uji aktivitas antibakteri, sebaiknya juga dicoba menggunakan metode tanam bawah untuk bakteri *E.coli*, sehingga dapat dihitung lebih jelas penguangan jumlah koloni bakteri yang terjadi.
3. Perlu dilakukan penentuan dosis letal median (LD50) melalui uji toksisitas asap cair cangkang buah *H.braziliensis*

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada, ketua laboratorium dan laboran FKIP Kimia UNIB, FKIK dan SBIH Ruyani yang sudah senantiasa membantu dan membimbing penelitian selama ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Badan Pusat Statistik. 2014. Perkebunan Tanaman Karet. <http://www.bps.go.id> (diakses tanggal 2 Desember 2016)
- [2] Badan Pusat Statistik. 2013. Perkebunan Tanaman Karet. <http://bengkulu.bps.go.id>. (diakses tanggal 2 Desember 2016)
- [3] Bahtiar dan Irawan. 2015. Pengaruh Gas Cooler dan Filter Pada Proses Gasifikasi Biomassa Cangkang Biji Karet Menggunakan Downdraf Gasifer. Lampung: Repository Universitas Muhammadiyah Metro. 4(2). ISSN 2301-6663
- [4] Diyoeshy,R,P., Redho,P,P., dan Elda,M.2015. Pembuatan Biobriket Dari Campuran Tempurung Dan Cangkang Biji Karet Dengan Batubara Peringkat Rendah. Palembang : Repository Universitas Sriwijaya, 2(1).

- [5] Rananda,V., Andi,S., dan Desi. 2015. *Pembuatan Karbon Aktif dari Cangkang Kulit Buah Karet (Hevea brasiliensis)*. Palembang : Repository Universitas Sriwijaya.
- [6] Prasetyowati, Mohammad, H., Salman, F. Desember 2014. Pembuatan Asap Cair Dari Cangkang Buah Karet Sebagai Koagulan Lateks.Palembang : Repository Universitas Sriwijaya. *Jurnal Teknik Kimia* Vol 20. No 4.
- [7] Simon,R.,de la Calle, B, Palme,S, Meier, D, Anklaam, E , June 2005. Composition and Analysis Of Liquid Smoke Flavouring Primary Products. *Jornal of Separation Science* Vol 28 Issue 9-10
- [8] Darmadji, P. 2002. *Optimasi Pemurnian Asap Cair Dengan Metoda Redestilasi*. Yogyakarta: Repository FTP-UGM. Vol XIII No 3.
- [9] Diah, L,A., dan Sari. 2010. *Asap Cair dan Aplikasinya Pada Produk Perikanan*. Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.
- [10] Andriani,Y , M N Ramli, M N Syamsumir, DF Kassim, MNI Jaafar,J Aziz, NA Marlina, L Musa,NS , Mohamad H , November 2015, Phytochemical Analysis , Antioxidant, Anti bacterial and Cytotoxicity Properties Of Keys and Cores Parts Of Pandanus Tectorius Fruits , *Arabian Journal of Chemistry*. <http://www.journal.elsevier.com>.
- [11] Andriani. Y, 2010, Study Correlation between antioxidant activity and total phenolics content of Phaleria Macrocarpa leaves extract, *UMTAS International conference*, University Malaysia Terengganu (UMT) Kuala Terengganu Malaysia, 6-8 Mei.
- [12] Schlegel, G. 1994. *Mikrobiologi Umum* Edisi Keenam. Yogyakarta : Gajah Mada University Press.
- [13] Meliawati, R. 2009. *Escherichia coli*. *Jurnal BioTrends* Vol.4 No.1.
- [14] Hermansyah, Oky. 2009. *Uji Aktivitas dan Mekanisme Kerja Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Kecombrang (Nicolaia Speciosa Horan) Terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Jakarta : Repository UIN Syarif Hidayatullah
- [15] Mardiana, I. 2007. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Biji Kecubung (Datum metel L) Terhadap Bakteri Escherichia coli dan Bacillus cereus*. Bengkulu : Repository Universitas Bengkulu.
- [16] Juliantina, F,R., Ayu,D, C, M., dan Nirwani, B. 2008. Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*
- [17] Mutmainnah, BQ. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Dari Asap Cair Sekam Padi Grade 1 Terhadap Beberapa Bakteri Pencemar Pangan*. Mataram : Repository Universitas Mataram.
- [18] Nursyamsi, Reza. 2012. *Aplikasi Asap Cair Cangkang Sawit Sebagai Pengawet Ikan dan Antibakteri*. Bogor : Repository Institut Pertanian Bogor
- [19] Panagan dan Syarif. Desember 2009. Uji Daya Hambat Asap Cair Hasil Pirolisis Kayu Pelawan (*Tristania abavata*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Sains Edisi Khusus* .

Penulisan Sitasi Artikel ini ialah :

Oktarina. D, Sumpono, Elvia, R. 2017, Uji Efektivitas Asap Cair Cangkang Buah *Hevea Braziliensis* Terhadap Aktivitas Bakteri *Escherichia coli*, *Alotrop*, 1(1):1-5.